

## Busta 1

1. Metodi di quantificazione di fluorescenza in Real Time PCR.
2. Modalità di conteggio cellulare nelle colture.
3. Tricromica di Gomori: tipo di colorazione, preparazione tecnica, campi di applicazione e reperti osservabili.

F.to La Commissione

## Busta 2

1. Immunofluorescenza indiretta.
2. Fissativi istologici e loro preparazioni.
3. Concetto di “potere di risoluzione” di un microscopio ottico.

F.to La Commissione

## Busta 3

1. Il processo di “permeabilizzazione” nel corso di un esperimento di immunocitochimica.
2. NGS e sequenziamento di Sanger: principi e differenze.
3. Funzionamento del microscopio elettronico.

F. to La Commissione

## Busta 4

1. La metodica di fluorescenza diretta e indiretta: vantaggi e svantaggi.
2. Il concetto di co-localizzazione in microscopia confocale.
3. La tecnica Elisa.

F. to La Commissione

## Busta 5

1. Tricomica di Masson: tipo di colorazione, preparazione tecnica, campi di applicazione e reperti osservabili
2. Applicazioni e limiti del complesso streptavidina-biotina in immunisto chimica.
3. Descrivere l'allestimento di una curva dose-risposta ad un farmaco di una linea cellulare.

F. to La Commissione

## Busta 6

1. Frazionamento cellulare mediante centrifugazione.
2. Che cos'è sequenziamento genico di nuova generazione (next generation sequencing, NGS).
3. Principali metodi di fissazione del tessuto per immunohistochimica.

F. to La Commissione

## Busta 7

1. Metodi di amplificazione del segnale in immunoistochimica.
2. Immunofluorescenza diretta D.
3. Descrivere un protocollo di estrazione di DNA da sangue periferico.

F. to La Commissione

## Busta 8

1. Preparazione di un campione bioptico per studio ultrastrutturale.
2. Principi di funzionamento di un microscopio ottico a fluorescenza.
3. Principi di funzionamento di un microscopio con focale.

F. to La Commissione

## Busta 9

1. Oil red O (ORO) tipo di colorazione, preparazione tecnica, campi di applicazione e reperti osservabili.
2. Colorazione immunoistochimica, principi generali della metodica.
3. Fosfatasi Acida: tipo di colorazione, preparazione tecnica, campi di applicazione reperti osservabili.

F. to La Commissione

## Busta 10

1. Colorazione immunoistochimica: principali campi di applicazione.
2. Immunofluorescenza: principali campi di applicazione.
3. Principali colorazioni istologiche elettive per lo studio del sistema nervoso (NISSL GOLGI CAJAL): principi di funzionamento strutture evidenziate.

F. to La Commissione

## Busta 11

1. Fissazione o congelamento dei campioni biotici per studi immunoistochimica: illustrare le tecniche ed applicazioni.
2. Principali differenze tra metodo diretto e indiretto nelle ELISA.
3. ELISA: principali campi di applicazione.

F. to La Commissione

## Busta 12

1. Western Blot: principi generali della metodica.
2. Succinate dehydrogenase (SDH): tipo di colorazione, preparazione tecnica, campi di applicazione e reperti osservabili.
3. Western Blot: principali campi di applicazione.

F. to La Commissione

## Busta 13

1. Whole-genome sequencing (WES): cos'è e a cosa serve.
2. RT-PCR: principi generali della metodica.
3. RT PCR principali campi di applicazione.

F. to La Commissione

## Busta 14

1. Colture cellulari: principi generali della metodica.
2. Ionizzazione per impatto elettronico (EI) e ionizzazione per elettrospray (ESI) nella spettrometria di massa.
3. Colture cellulari principali applicazioni.

F. to La Commissione

## Busta 15

1. Laboratorio di epigenetica: fondamenti teorici e principali applicazioni.
2. Principali tecniche di antigenico per immunoistochimica: principi di funzionamento, vantaggi e svantaggi
3. Temperature di conservazione dei campioni biologici, differenze e implicazioni per successive applicazioni possibili.

F. to La Commissione

## Busta 16

1. Metodi di fissazione in microscopia elettronica.
2. Isoelettrofocalizzazione come metodo rilevazione di proteine nel liquor: principi generali.
3. Nerve fiber teasing: protocollo di applicazioni.

F. to La Commissione

## Busta 17

1. Esame citologico del liquor, procedura e criticità.
2. PCR end-point e PCR real time.
3. Rosso Congo: tipo di colorazione, preparazione tecnica, campi di applicazione e reperti osservabili.

F. to La Commissione

## Busta 18

1. Utilizzo del microscopio elettronico in neuropatologia.
2. Verhoeff-van Gieson: tipo di colorazione, preparazione tecnica, campi di applicazione, reperti osservabili.
3. Periodic acid-Schiff: tipo di colorazione, preparazione tecnica, campi di applicazione.

F. to La Commissione

At – 80°C, muscle biopsies prepared in this way can be stored 30years and longer without noticeable degradation. Despite care and experience in the processing and freezing of muscle specimens, there will inevitably be occasions where evaluation lack of proper orientation.

F. to La Commissione

Duchenne muscular dystrophy (DMD), the most common muscular dystrophy, is one of the most frequent, lethal, genetic diseases of childhood (Fig. 1). Because DMD is an X-linked recessive disease, it almost exclusively afflicts males. DMD and a milder form of muscular dystrophy, Becker muscular dystrophy (BMD), are caused by mutation of the gene that encodes a membrane-associated structural protein, called dystrophin.

F. to La Commissione

The biopsies were immediately fixed in freshly 2% paraformaldehyde-lysine-periodate fixative; six to 10 biopsies in each group of age and gender were randomly assigned to both immunocytochemistry and electron microscopy; for these biopsies, a small piece of the specimen was removed from the biopsy 2 hours following the beginning of the fixative period and transferred to glutaraldehyde ( 2,5% in cacodylate buffer) for further processing ( see electron microscopy section).

F. to La Commissione

All file copy H&E-stained slide were reviewed for the histologic quality of the biopsies. To be selected for the study, each case was required to have stored frozen tissue sufficient for the testing detailed below. Thirty-two DYSF cases were selected with confirmed genetic pathogenic variants in the DYSF gene, negative or greatly reduced dysferlin protein expression in Western blot analysis, and/or loss or greatly reduced immunofluorescence staining for dysferlin.

F. to La Commissione

Myelinated axons and the architecture of nerve cross-sections were analyzed at 40x magnification using the NIS software (Nikon; microscope: Nikon Eclipse NI-I; Camera: Nikon DS-Ri2). Fascicle counts, the over-all number of myelinated axons, their density per mm<sup>2</sup> and the g-ratio ( the ratio of the inner axonal diameter and the outer diameter of the myelin sheath) were assessed manually, or semi-automated depending on the size and homogeneity of the sample.

F. to La Commissione